抗风桐的丛生芽诱导与再生

于昕塍[1,2]，梁韩枝[2]，陈双艳[1,2]，熊玉萍[2]，吴坤林[2]，郑枫[2]，
简曙光[2]，任海[2]，曾宋君[2]，马国华[2*]
（1. 仲恺农业工程学院，广州 510225；2. 中国科学院华南植物园，广州 510650）

摘要：南海珊瑚岛礁自然植被由于人类干扰和环境变化出现了退化现象，急需进行植被恢复重建。抗风桐作为南海珊瑚岛礁的优势种，在防风固沙以及植被生态恢复等方面发挥着重要作用。该研究以抗风桐带腋芽茎段为外植体，研究不同基本培养基、激素对其不定芽增殖和活性炭对生根、移栽的影响，以建立其种苗快速繁殖和植株再生体系。结果表明：MS 基本培养基适合于丛生芽的诱导和增殖，最佳继代培养周期为 60 d，最佳的不定芽增殖培养基为 MS + 6-BA 2.0 mg·L^{-1} + NAA 0.1 mg·L^{-1}，培养 60 d 后增殖倍数达 5.52；不定芽在 MS +1.0 mg·L^{-1} IBA 培养基中生根率为 96.0%，在生根培养基添加 1.6 g·L^{-1} 活性炭后其生根率下降至 42.4%；以添加活性炭生根培养获得的组培苗进行移栽成活率高达 93.9%，而不添加活性炭生根培养的组培苗移栽成活率仅为 78.3%。研究结果可为抗风桐种苗的离体快繁和珊瑚岛礁的植被恢复奠定技术基础。

关键词：抗风桐，丛生芽，增殖，生根，移栽

中图分类号：Q943.1　　　　　　　　**文献标识码：**A

Multiple shoot proliferation and plant regeneration in *Pisonia grandis*

YU Xincheng[1,2], LIANG Hanzhi[2], CHEN Shuangyan[1,2], XIONG Yuping[2], WU Kunlin[2], ZHENG Feng[2], JIAN Shuguang[2], REN Hai[2], ZENG Songjun[2], MA Guohua[2*]
(1. *Zhongkai University of Agriculture and Engineering*, Guangzhou 510225, China; 2. *South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences*, Guangzhou 510650, China)

Abstract: The natural vegetation of coral islands in the South China Sea has been degraded due to human disturbance and environmental changes, and there is an urgent need for vegetation restoration and reconstruction. *Pisonia grandis* is a dominant and tool species in the South China coral islands and an important role in windbreak and sand fixation and vegetation restoration. Here the stems of *P. grandis* were used as explants, the effects of different basal media, plant growth regulators (PGRs) and activated charcoal (AC) on axillary shoot proliferation, rooting and transplanting were studied. A rapid shoot proliferation and plant regeneration system was established. The results showed that MS medium was suitable for the shoot proliferation and subculture period was 60 days. The optimal shoot proliferation medium was MS medium that supplemented with 2.0 mg·L^{-1} 6-BA + 0.1 mg·L^{-1} NAA and the shoot proliferation coefficient was 5.52. The rooting percentage was 96.0% on the MS medium supplemented with 1.0 mg·L^{-1} IBA. However, the rooting percentage decreased to 42.4% as the medium was supplemented with 1.6

收稿日期：2020-08-27

基金项目：中国科学院 A 类战略性先导科技专项（XDA13020500）[Supported by the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA13020500)]。

作者简介：于昕塍(1996-)，男，黑龙江佳木斯人，硕士研究生，主要从事植物生物技术研究，（E-mail）yuxincheng@scbg.ac.cn。

*__通信作者：__马国华，博士，研究员，主要从事植物生物技术研究，（E-mail）magh@scib.ac.cn。

g·L^{-1} AC; The plantlets that was cultured on the MS medium supplemented with AC, the transplanting survival percentage was 93.9% while the transplanting survival percentage was 78.3% on the medium supplemented without AC. This work would lay a foundation for large-scale proliferation and regeneration of *P. grandis*.
Keywords: *Pisonia grandis*, multiple shoot, proliferation, rooting, transplanting

抗风桐（*Pisonia grandis*）为紫茉莉科胶果木属常绿乔木，别名白避霜花、麻枫桐或无刺藤，广泛分布在西印度群岛和东太平洋的珊瑚岛（中国科学院中国植物志委员会，1996；Handler et al., 2007）。在我国，抗风桐主要分布在海南的西沙群岛以及岛湾等沿海地区（陈炳辉等，1993；简曙光和任海，2017）。抗风桐具有耐强光、干旱和贫瘠等热带珊瑚岛礁环境的生态适应性，根部的根瘤菌能够进行生物固氮，利于海岛植物繁育以及海岛土壤养分的提升（Cairney et al., 1994; Ashford & Allaway, 2010），是热带珊瑚岛礁环境的主要植被恢复工具种（简曙光和任海，2017）。

目前对珊瑚岛礁植物恢复繁育的研究已经开展，如简曙光和任海（2017）对热带珊瑚岛礁的植被恢复工具种进行了收集汇总，选编了 100 种适合用于热带珊瑚岛礁植被恢复的植物并提供了简易的栽培管理方法；梁韩枝和马国华（2018）对草海桐（*Scaevola taccada*）和单叶蔓荆（*Vitex rotundifolia*）进行了繁育技术研究；Xiong et al.（2019）对苦郎树（*Clerodendrum inerme*）、过江藤（*Phyla nodiflora*）和锦绣苋（*Alternanthera bettzickiana*）进行了体外繁殖以及耐盐性研究；陈双艳和马国华（2020）对马齿苋属（*Portuluca*）的毛马齿苋（*P. pilosa*）、大花马齿苋（*P. grandiflora*）和马齿苋（*P. oleracea*）等植物的快速繁育技术进行了详细研究，报道了不同的植物生长调节剂对其生长的以及植株再生的影响。

抗风桐为珊瑚岛礁植被群落的优势种，国内外对其研究方向主要集中在生物学特征（Burger, 2005；王馨慧等，2017）、化学成分（Jayakumari et al., 2012; Sutthivaiyakit et al., 2013; Devendiran et al., 2014）、菌根研究（Chambers et al., 1998; Sharples & Cairney, 1998; Hayward and Horton, 2012）及药用价值（Prabu et al., 2008; Jayakumari et al., 2012），较少有关于其繁殖的研究报道。Burger（2005）报道了抗风桐主要通过种子繁殖，新鲜种子萌发率虽然较高，但幼苗成活率非常低，仅为 0.1%，无法通过实生苗或扦插提供大量的苗木满足南海珊瑚岛礁植被恢复的需要。利用生物技术进行抗风桐的快速繁殖将是解决问题的方法之一。本研究以抗风桐带芽茎段为外植体，进行丛生芽诱导和植株再生研究，以期建立其种苗快速繁殖和植株再生体系，为抗风桐种苗规模化生产和珊瑚岛礁的植被恢复奠定技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料

抗风桐小苗来源于西沙群岛，其营养杯苗在海南文昌繁育基地繁育，之后带回广州中国科学院华南植物园科研区内的大棚。

1.2 外植体消毒及腋芽诱导

取抗风桐健康枝条的茎段，剪去多余叶片，以长 2~3 cm 并带有 1 个腋芽的茎段为外植体，将外植体放在自来水下流水冲洗 15 min 后，用 0.1%（w/v）升汞浸泡消毒 8 min，无菌水漂洗 4~5 次，用无菌滤纸将茎段水分吸干后备用。在芽诱导培养基上培养。腋芽诱导培养基：MS + 1.0 mg·L^{-1} 6-BA + 0.1 mg·L^{-1} NAA + 30 g·L^{-1} 蔗糖 + 6 g·L^{-1} 琼脂，pH 为 5.8。每瓶接种 1 个外植体，共接种 30 瓶，30 d 后统计污染率和腋芽诱导率，并进行初步的繁芽。

1.3 增殖培养

以 MS、WPM 为基本培养基，添加 6-BA 1.0 mg·L^{-1}、NAA 0.1 mg·L^{-1}，将腋芽诱导培

养所得的腋芽接种至不同增殖培养基中培养（表 1），每瓶接种腋芽 3 个，每个处理 10 瓶，重复 3 次，在培养 30 、60 、90 d 时统计增殖倍数。

将从生芽接种于以 MS 为基本培养基，添加 6-BA（0.5、1.0、2.0 mg·L^{-1}）、NAA（0.1、0.3、0.5 mg·L^{-1}）继代增殖培养基中，每瓶接种芽 3 个，每个处理 10 瓶，重复 3 次。培养 60 d 后统计增殖倍数。

1.4 生根培养

将无根丛生芽分成 2~3 cm 的单芽接种于以 MS 为基本培养基，添加不同浓度活性炭（activated charcoal，AC）（0、0.5、1.6、2.5 g·L^{-1}）和 IBA 1.0 mg·L^{-1} 的生根培养基中，每瓶接种不定芽 3 个，每个处理 10 瓶，重复 3 次。培养 60 d 后统计抗风桐生根时间、生根率和愈伤组织发生率。

以上腋芽诱导、增殖培养、生根培养的培养条件：光周期 12 h·d^{-1}，光照强度为 80 μmol·m^{-2}·s^{-1}，温度为 26 ℃，培养时间为 30 d。

1.5 炼苗移栽

将不同培养基中的生根苗的瓶盖拧松，并置于室外进行炼苗 5~7 d，自来水洗掉根部培养基，移栽到河沙∶黄泥∶泥炭土体积比为 1∶1∶1 的基质中，40 d 后统计不同生根培养基的生根苗的移栽成活率。

1.6 数据处理分析

腋芽萌发率=萌芽的茎段数/接种的外植体总数×100%；增殖倍数=接种培养后的总芽数/接种时的总芽数；生根率=（培养 60 d 后出现生根苗数/接种时的总芽数）×100%；愈伤组织发生率=发生愈伤组织的苗数/接种时的的总苗数；移栽成活率=成活苗数/移栽总苗数×100%。采用 Microsoft Excel 整理数据，SPSS 17.0 软件进行 Duncan 方差分析。

2 结果与分析

2.1 外植体消毒及腋芽诱导

培养 30 d 后统计外植体污染率为 40.23%，而未污染外植体的腋芽开始萌发。前期预试验表明，抗风桐内生菌较多，但表面消毒时间过长切口处会出现褐化现象，过短则污染较严重。适合的表面消毒方法为升汞消毒 8 min 后转入腋芽诱导培养基中，腋芽萌发率为 89%。

2.2 增殖培养

将启动培养基中的所获得的腋芽（图 1：A）切下转入增殖培养基中进行增殖培养。表 1 结果显示，WPM 培养基中不定芽增殖倍数总体低于 MS 培养基中的增殖倍数。当抗风桐外植体培养时间为 30 d 时，增殖倍数较低。延长至 60 d 时，增殖倍数有显著差异。当培养时间延长至 90 d 时，由于培养基中的营养逐渐耗尽，部分老叶开始黄化萎蔫，还伴有直接生根的现象（图 1：C），因此增殖培养时间不宜过长。培养基（I-5）和（I-6）增殖倍数虽无显著差异，考虑到时间及培养成本，在所选用的培养基中最适合抗风桐的增殖培养基为（I-5），即 MS + 1.0 mg·L^{-1} 6-BA + 0.1 mg·L^{-1} NAA，培养周期为 60 d，增殖倍数达 4.63。

将初代增殖培养的芽苗转入继代增殖培养基中增殖培养丛生芽（图 1：B）。表 2 结果显示 9 个处理对抗风桐增殖倍数有不同的影响，6-BA 浓度与不定芽增殖倍数呈正相关，同时随着 6-BA 浓度提高，丛生芽基部愈伤化越严重，而当 6-BA 与 NAA 配合使用时可减缓不定芽的愈伤化。在 9 个处理中，（II-4）和（II-7）号培养基增殖倍数最高，增殖倍数分别为 5.31 和 5.52，差异不显著，但（II-4）号培养基中的丛生芽基部愈伤化严重，不适合作为抗风桐的最佳增殖培养基。因此，在所选用的培养基中最适合抗风桐后续增殖培养的为（II-7）MS + 6-BA 2.0 mg·L^{-1} + NAA 0.1 mg·L^{-1}。

表 1 基本培养基及培养时间对抗风桐增殖的影响

Table 1 Effects of culture time and basal media on shoots proliferation in *Pisonia grandis*

培养基编号 Medium code	基本培养基 Basal medium	培养时间 Culture time (d)	增殖倍数 proliferation efficiency
I-1	WPM	30	2.13 ±0.04c
I-2	WPM	60	3.58 ±0.04b
I-3	WPM	90	3.63 ±0.03b
I-4	MS	30	2.34 ±0.06c
I-5	MS	60	4.63 ±0.24a
I-6	MS	90	4.71 ±0.24a

注：表中的不同小写字母表示不同的基本培养基和培养时间之间存在显著性差异（P≤0.05, Duncan's 双尾检测）。**WPM**. 木本植物培养基; **MS**. MS 培养基。

Note：Different lowercase letters indicate significant differences within different basic medium and culture time (P≤0.05; Duncan's multiple range test). **WPM**. Woody plant medium; **MS**. MS medium。

表 2 植物生长调节剂（PGRs）对抗风桐增殖的影响（60 d）

Table 2 Effects of PGRs on shoots proliferation in *Pisonia grandis* within 60 days

培养基编号 Medium code	6-苄氨基嘌呤 6-BA (mg L^{-1})	萘乙酸 NAA (mg L^{-1})	增殖倍数 Proliferation efficiency	芽生长情况 Growth of shoots
II-1	0	0	1.02 ±0.08e	无愈伤 No callus
II-2	0.5	0	2.88 ±0.50c	无愈伤 No callus
II-3	1.0	0	4.63 ±0.08b	少量愈伤 Few callus
II-4	2.0	0	5.31 ±0.15a	愈伤化严重 More callus
II-5	0.5	0.1	4.56 ±0.18b	无愈伤 No callus
II-6	1.0	0.1	4.88 ±0.17b	无愈伤 No callus
II-7	2.0	0.1	5.52 ±0.13a	轻微愈伤 Few callus
II-8	1.0	0.3	4.48 ±0.17b	无愈伤 No callus
II-9	1.0	0.5	4.52 ±0.13ab	无愈伤 No callus

注：表中的不同小写字母表示不同生成调节剂之间存在显著性差异（P≤0.05, Duncan's 双尾检测）。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences within different PGRs treatments (P≤0.05, Duncan's multiple range test).

2.2 生根培养

抗风桐生根培养结果见表 3。抗风桐在对照空白培养基中生根率较低，且易产生愈伤组织（图 1：D）。添加 1.0 mg L^{-1} 的 IBA 后抗风桐生根率显著提高且生根时间缩短，但同时愈伤化较为严重。添加 AC 后虽然降低抗风桐的生根率，但可以减缓 IBA 造成的芽基部愈伤化。在（III-7）和（III-8）号培养基中抗风桐生根率无显著差异，但考虑到生根时间，（III-8）号培养基不适合作为抗风桐的生根培养基。因此，在所用的培养基中抗风桐的最适生根培养基为（III-7）MS +1.6 g L^{-1} AC +1.0 mg L^{-1} IBA。

表 3 植物生长调节剂与活性炭（AC）对抗风桐生根的影响（60 d）

Table 3 Effects of PGRs and activated charcoal (AC) on rooting inducing condition in *Pisonia grandis* within 60 days

培养基编号 Medium code	活性炭 AC (g L^{-1})	吲哚丁酸 IBA (mg L^{-1})	生根时间 Rooting time (d)	生根率 Rooting (%)	愈伤组织发生率 Callus incidence(%)
III-1	0	0	32	45.7 ±2.8c	20.4 ±0.5bc
III-2	0.5	0	36	20.3 ±1.4e	7.4 ±0.8d
III-3	1.6	0	37	13.7 ±1.3f	3.1 ±0.6f

III-4	2.5	0	39	13.5 ±2.0f	1.7 ±0.9f
III-5	0	1.0	20	96.0 ±2.2a	52.1 ±1.8a
III-6	0.5	1.0	21	76.4 ±3.2b	22.1 ±1.5b
III-7	1.6	1.0	29	42.4 ±1.8cd	4.8 ±0.9de
III-8	2.5	1.0	34	39.4 ±1.8cd	3.2 ±0.6e

注：表中的不同小写字母表示不同生成调节剂和活性炭处理之间存在显著性差异（*P*≤0.05, Duncan's 双尾检测）。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences within different PGRs treatments and AC treatments (*P*≤0.05, Duncan's multiple range test).

2.3 炼苗移栽

在移栽 40 d 后统计（表 4）发现，在生根培养中不添加活性炭的组培苗移栽成活率为 78.3%，而添加了活性炭生根培养的组培苗的移栽成活率为 93.9%，并且叶片翠绿，长势良好（图 1：F）。

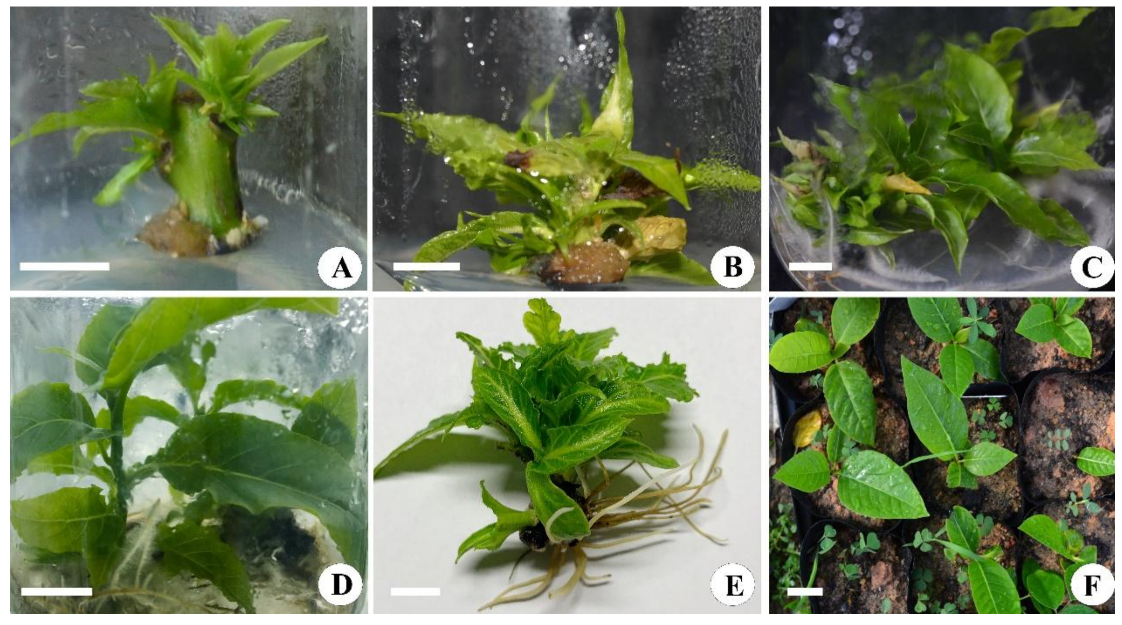
表 4 生根培养基对抗风桐移栽成活率的影响（40 d）

Table 4 Effects of rooting medium on transplanting survival rate in *Pisonia grandis* within 40 days

编号 Code	生根培养基 Rooting medium	移栽基质 Transplanting substrate	移栽成活率 Survival percentage (%)
IV-1	MS +1.6 g L^{-1} AC +1.0 mg L^{-1} IBA	河沙∶黄泥∶泥炭土=1∶1∶1 river sand∶yellow mud∶slimy soil=1∶1∶1	93.9 ±3.6a
IV-2	MS +1.0 mg L^{-1} IBA	河沙∶黄泥∶泥炭土=1∶1∶1 river sand∶yellow mud∶slimy soil=1∶1∶1	78.3 ±2.8b

注：表中的不同小写字母表示不同生根培养基之间存在显著性差异（*P*≤0.05, Duncan's 双尾检测）。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences within different rooting medium (*P*≤0.05, Duncan's multiple range test).



A. 接种 30 d 后萌发的腋芽；**B**. 增殖培养 60 d 获得的丛生芽；**C**. 初代增殖 90 d 后生根的丛生芽；**D**. 在无活性炭的生根培养基上的生根苗(60 d)；**E**. 在含活性炭的生根培养基上的生根苗（60 d)；**F**. 移栽 40 d 后的组培苗。(标尺 = 1.5 cm)

A. New axillary shoot developed after 30 days; **B**. Clustered axillary shoots from subculture after 60 days; **C**. Rooting plantlets after culture for 90 days on the initial culture medium; **D**. On the AC-free rooting medium after 60 days; **E**. On the rooting medium with AC after 60 days; **F**. Transplanted plantlets after 40 days. (Bars=1.5 cm)

图 1 抗风桐的组培快繁

Fig.1 Tissue culture and plant regeneration of *Pisonia grandis*

3 讨论与结论

在植物组培快繁中，生长素和细胞分裂素等生长调节剂对培养物的诱导分化起重要作用。本研究探究了不同浓度和激素组合对抗风桐丛生芽诱导的影响，单独使用 6-BA 虽然能够诱导出丛生芽，但 6-BA 达到 2.0 mg·L^{-1} 时使抗风桐愈伤化严重，这说明抗风桐对 6-BA 浓度较为敏感，加入 NAA 后可以减轻其愈伤化。研究表明同为紫茉莉科的叶子花（*Bougainvillea spectabilis*）对 6-BA 较为敏感，当 6-BA 浓度升高时易产生愈伤，对丛生芽增殖产生不利影响（周俊辉等，2009）。李祖毅和温远光（2017）对 3 个品种的叶子花（*B. spectabilis*）的组织培养的研究结果表明，叶子花丛生芽增殖的最适培养基为 MS + 6-BA 2.0 ~ 2.5 mg·L^{-1} + NAA 0.05 ~ 0.1 mg·L^{-1}，其他的叶子花组培研究也表明了增殖培养过程中植物激素的最佳组合为 6-BA 和 NAA（Chaturvedi et al., 1978; Javed et al., 1996; 郭海滨和雷家军，2006）。与上述研究结果一致，抗风桐的增殖培养基也以 MS + 6-BA 2.0 mg·L^{-1} + NAA 0.1 mg·L^{-1} 为宜。

移栽基质的选择对组培苗的成活率以及生长状况有较大影响。梁韩枝和马国华（2018）对热带珊瑚岛礁植物草海桐的移栽试验表明，草海桐在 100%的珊瑚沙基质移栽 45 d 后的成活率为 73.2%，但是生长状况不佳，因此选择成活率为 82.7%且生长状况良好的河沙基质；在其对单叶蔓荆的移栽试验中，考虑到移栽成活率也选择了黄泥和泥炭土的混合基质而没有选择珊瑚沙。在本研究中，为了获得较高的移栽成活率以及良好的生长状况，选择了河沙，黄泥和泥炭土的混合移栽基质。移栽成活后，需要重新运回海南文昌育苗基地二次驯化后再运输至珊瑚岛礁。由于移栽基质不同，运输至珊瑚岛礁上的植物需要进行环境适应，目前红厚壳、苦郎树、草海桐、木麻黄和厚藤等已经进行了珊瑚岛礁的适应性研究（李婕等，2019；罗琦等，2018）。该研究对比了在文昌基地的苗木和移栽至岛礁的苗木的生理指标，发现大多数植物通过降低蒸腾速率来适应珊瑚岛礁的干旱胁迫。王馨慧等（2017）对热带珊瑚岛礁本土抗风桐的研究表明，抗风桐的叶片具有良好的耐干旱特征并且抗风桐对土壤养分的利用率较高，具有热带珊瑚岛礁环境的生态适应性，适合用作热带珊瑚岛礁或类似环境的恢复工具种，可以进一步开发利用。目前尚未有关于抗风桐组培苗在珊瑚岛礁的适应性分析，还需做后续研究。

活性炭（AC）在植物组织培养中有重要的作用，研究表明在植物组织培养时，为防止褐变和有害物质的积累，常在培养基中加入适量活性炭（张爱萍，2009）。适当浓度的活性炭可以吸附外植体在培养过程中产生的有毒物质，且活性炭提供的暗环境有利于根的发生和生长，但活性炭也常常吸附并抵消生长调节物质的作用（刘用生和李友勇，1994）。目前来看，活性炭的使用浓度多在 0.02~1.0%之间，尤以 0.1~0.5%更常见。韩文璞和袁明莲（2001）在甜樱桃的组织培养研究中表明，加入活性炭培养的生根苗，移栽成活率均高于对照，且随添加浓度的增加而提高。本研究也得到了类似的结论，活性炭虽然降低了抗风桐的生根率，但可以降低愈伤化（图 1：E），显著提高生根苗的移栽成活率。经过活性炭处理的组培苗移栽成活率明显高于对照组，推测可能是加入活性炭的生根培养获得了更具有生活力和吸收功能的不定根，更有利于生根苗顺利地适应移栽的外界条件而获得更高的成活率。

MS 培养基是 Murashige 和 Skoog 于 1962 年为烟草细胞培养设计的，其特点是无机盐和离子浓度较高，其养分的数量和比例合适，能满足植物细胞的营养和生理需要，常常被用于植物的离体培养。WPM（Woody Plant Medium）是 Lloyd 和 McCown 在 1980 年为山

月桂茎尖培养提出的一种基本培养基方案，现广泛应用于木本植物的组织培养研究中，而作为木本植物的抗风桐，却在 MS 培养基上的培养效果优于 WPM 培养基。Duhoky 对 3 种叶子花的研究表明，WPM 培养基在愈伤诱导和器官发生的过程中均比 MS 培养基取得了更好的效果（Duhoky & AL-Mizory, 2014），这与本研究得到的结论不同，可能是由于抗风桐对离子浓度需求较高，这一结果还需要深入研究。

本研究成功地建立了抗风桐丛生芽诱导及植株再生体系，为扩大抗风桐的繁殖规模提供了理论基础和技术支持，解决了因实生苗存活率不高导致无法提供大量苗木进行植被恢复的问题。另外，本研究对抗风桐的种质资源保护和离体保存具有重要意义。

参考文献：

ASHFORD AE, ALLAWAY WG, 2010. A sheathing mycorrhiza on *Pisonia grandis* R. Br. (Nyctaginaceae) with development of transfer cells rather than a hartig net[J]. New Phytol, 90(3): 511–519.

BURGER AE, 2005. Dispersal and germination of seeds of *Pisonia grandis*, an indo-pacific tropical tree associated with insular seabird colonies[J]. J Trop Ecol, 21(3): 263–271.

CAIRNEY JWG, REES BJ, ALLAWAY WG, et al., 1994. A basidiomycete isolated from a *Pisonia* mycorrhiza forms sheathing mycorrhizas with transfer cells on *Pisonia grandis*[J]. New Phytol, 126(1): 91–98.

CHAMBERS S, SHARPLES J, CAIRNEY J, 1998. Towards a molecular identification of the *Pisonia mycobiont*[J]. Mycorrhiza, 7(6): 319–321.

CHATURVEDI HC, SHARMA AK, PRASAD RN, 1978. Shoot apex culture of *Bougainvillea glabramagnifica*[J]. Hortscience, 13(1): 36-36.

CHEN BH, LI ZX, XING FW, et al., 1993. *Pisonia grandis* on Paracel Islands[J]. Plants, (3):24–25. [陈炳辉，李泽贤，邢福武，等，1993. 西沙群岛抗风桐[J]. 植物杂志, (3): 24-25.]

CHEN SY, MA GH, 2020. A comparative study on rapid propagation *in vitro* and salt tolerance of three species of *Portulaca*[D]. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering. [陈双艳，马国华，2020. 马齿苋属三个种组培快繁技术及抗盐性比较研究[D]. 广州：仲恺农业工程学院.]

Delecti Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Academiae Sinicae Edita, 1996. Flora Reipublicae Popularis Sinicae[M]. Beijing: Science Press. [中国科学院中国植物志委员会, 1996. 中国植物志[M]. 北京：科学出版社.]

DEVENDIRAN RM, CHINNAIYAN SK, MOHANTY RK, 2014. Sunlight mediated biosynthesis and characterisation of gold nanoparticles using *Pisonia grandis* leaf extract for biomedical applications[J]. J Biomat & Tiss Engin, 4(6): 430–438.

DUHOKY MMS, AL-MIZORY LSM, 2014. *In vitro* Micropropagation of selected *Bougainvillea* sp. through callus induction[J]. Iosr J Agric Veterinary Sci, 6(6): 1-6.

GUO HB, LEI JJ, 2006. The tissue culture of *Bougainvillea glabra* Chosiy[J]. J Anhui Agric Sci, 34(1): 13-14. [郭海滨，雷家军, 2006. 叶子花组织培养技术研究[J]. 安徽农业科学, 34(1): 13-14.]

HANDLER AT, GRUNER DS, HAINES WP, et al., 2007. Arthropod surveys on Palmyra Atoll, Line Islands, and insights into the decline of the native tree *Pisonia grandis* (Nyctaginaceae)[J]. Pacific Sci, 61(40): 485–502.

HAN WP, YUAN ML, 2001. Application of activited charcoal in the tissue culture of *Cerasus avium*[J]. Deci Fruit, 33(3): 7-8. [韩文璞，袁明莲, 2001. 活性炭在甜樱桃组织培养中的应

用[J]. 落叶果树, 33(3): 7-8.]
HAYWARD JA, HORTON TR, 2012. Edaphic factors do not govern the ectomycorrhizal specificity of *Pisonia grandis* (Nyctaginaceae) [J]. Mycorrhiza, 22(8): 647–652.
JAVED MA, HASSAN S, NAZIR S, et al., 1996. *In vitro* propagation of (*Bougainvillea spectabilis*) through shoot apex culture[J]. Pakistan J Bot, 28(2): 207-211.
JAYAKUMARI S, RAVICHANDIRAN, NIRMALA S, et al., 2012. Anti-inflammatory activity of flavonoid fraction of *Pisonia grandis* R. Br leaves[J]. Ann Phytomed, 1(1): 99–104.
JAYAKUMARI S, ARTHANARESWARAN, VIJAYALAKSHMI AA, et al., 2012, Free radical scavenging activity of *Pisonia grandis* R. Br leaves[J]. Indian J Pharm Educ, 46(1): 34–37.
JIAN SG, REN H, 2017. Atlas on tool species for vegetation restoration on tropical coral islands[M]. Beijing: Chinese Forestry Publishing. [简曙光, 任海, 2017. 热带珊瑚岛礁植被恢复工具种图谱[M]. 北京：中国林业出版社.]
LI J, LIU N, REN H, et al., 2016. Ecological adaptability of seven plant species to tropical coral island habitat[J]. Ecol Environ, 25(5):790-794. [李婕, 刘楠, 任海, 等, 2016. 7 种植物对热带珊瑚岛环境的生态适应性[J]. 生态环境学报, 25(5):790-794.]
LI ZY, WEN YG, 2017. Comparation on culture propogation of three varieties of *Bougainvillea spectabilis*[D]. Nanning: Guangxi University. [李祖毅, 温远光, 2017. 三种三角梅品种的组培繁殖比较研究[D]. 南宁：广西大学.]
LIANG HZ, MA GH, 2018. Study on propagation technology of tropical island plants *Scaevola taccada* and *Vitex rotundifolia*[D]. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering. [梁韩枝，马国华，2018. 热带海岛植物草海桐与单叶蔓荆的繁育技术研究[D]. 广州：仲恺农业工程学院]
LIU YS, LI YY, 1994. Activated carbon using in plant tissue culture[J]. Plant Physiol Comm, 30(3):214–217 [刘用生，李友勇，1994. 植物组织培养中活性炭的使用[J]. 植物生理学通讯, 30(3): 214–217.]
LUO Q, LIU H, WU GL, et al., 2018. Using functional traits to evaluate the adaptability of five plant species on tropical coral islands[J]. Acta Ecol Sin, 38(4) : 1256-1263. [罗琦, 刘慧, 吴桂林, 等, 2018. 基于功能性状评价 5 种植物对热带珊瑚岛环境的适应性[J]. 生态学报, 38(4):1256-1263.]
PRABU D, NAPPINNAI M, PONNUDURAI K, et al.，2008. Evaluation of wound-healing potential of *Pisonia grandis* R. Br: a preclinical study in Wistar rats[J]. Int J Low Extr Wound, 7(1): 21-27.
SHARPLES JM, CAIRNEY JWG, 1998. Assimilation of inorganic nitrogen by a mycobiont isolated from *Pisonia grandis* R. Br. (Nyctaginaceae) mycorrhiza[J]. Mycorrhiza, 7(5): 255–260.
SUTTHIVAIYAKIT S, SEEKA C, WETPRASIT N, et al., 2013. C-methylated flavonoids from *Pisonia grandis* roots[J]. Phytochem Lett, 6(3): 407–411.
WANG QC, 1991. Factors affecting rooting of microcuttings of the pear rootstock BP10030[J]. Sci Hortic, 45(3): 209–213.
WANG XH, LIU N, REN H, et al., 2017. Ecological and biological characteristics of *Pisonia grandis*[J]. Guihaia, 37(12): 1489–1497. [王馨慧, 刘楠, 任海, 等, 2017. 抗风桐(*Pisonia grandis*)的生态生物学特征[J]. 广西植物，37(12): 1489–1497.]
WANG Q, GUO XB, GUO YS, et al., 2014. Research progress of rooting on woody plant regeneration plant[J]. Shanxi For Sci Technol, 43(3): 27-30. [王琼, 郭小兵, 郭玉寿, 等,

2014. 木本植物再生植株生根的研究进展[J]. 山西林业科技，43(3): 27-30.]

XIONG YP, LIANG HZ, YAN HF, et al., 2019. NaCl-induced stress: physiological responses of six halophyte species in *in vitro* and *in vivo* culture[J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 139(3): 531-546.

ZHOU JH, ZENG JX, HUANG YS, et al., 2009. Study on establishment of germfree clone and *in vitro* flowering induction of *Bougainvillea spectabilis* Willd[J]. J SW Univ (Nat Sci Ed), 31(4): 73-78. [周俊辉, 曾洁娴, 黄宇珊, 等, 2009. 勒杜鹃无菌体系的建立与试管开花诱导的研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 31(4): 73-78.]

ZHANG AP, 2009. Activated carbon using in plant tissue culture[J]. Chin Fruit Veg, 29(2): 42–43. [张爱萍, 2009. 活性炭在植物组织培养中的应用[J]. 中国果菜, 29(2): 42–43.]